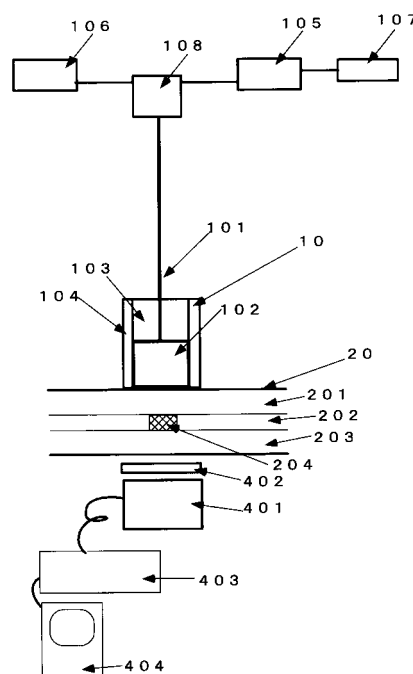




【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料を流すための流路と、波長の異なる 2 種の光を出射する光出射手段と、前記光出射手段からの出射光を集光して前記流路に向けて焦点を結ぶ集光レンズと、前記流路を透過した前記出射光の強度を検出する検出手段とを備えたマイクロ化学システムにおいて、前記流路の深さが、前記異なる 2 種の光が結ぶ焦点位置の距離の差の 2 倍以上であることを特徴とするマイクロ化学システム。

【請求項 2】

前記集光レンズは、色収差を有していることを特徴とする請求項 1 に記載のマイクロ化学システム。

【請求項 3】

前記集光レンズはロッドレンズであることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のマイクロ化学システム。

【請求項 4】

前記出射手段と前記集光レンズとが光ファイバーで結合されていることを特徴とする請求項 1 乃至 3 のいずれか 1 項に記載のマイクロ化学システム。

【請求項 5】

前記光ファイバーは、シングルモードファイバーであることを特徴とする請求項 4 に記載のマイクロ化学システム。

【請求項 6】

分析対象となる流体に、励起光を集光照射することによって、前記流体中に熱レンズを生成し、前記熱レンズに検出光を集光照射し、前記熱レンズを透過した前記検出光の強度を測定する光熱変換分光分析方法において、前記励起光と前記検出光の焦点位置の距離の差が、前記流体の深さの半分以下となるようにすることを特徴とする光熱変換分光分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、溶液中の試料に励起光と検出光を集光照射し、励起光によって試料中に熱レンズを形成し、該熱レンズを透過した検出光を測定するためのマイクロ化学システムおよび光熱変換分光分析方法に関し、特に微小空間において精度の高い超微量分析が可能であるととともに、任意の場所で簡便な検出が可能なマイクロ化学システムおよび光熱変換分光分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、半導体や生体試料、あるいは各種の液体試料等の分析や検出を行う方法として分光分析方法が広く利用されてきている。しかし、従来の分光分析方法では、微小空間での微量な物質あるいは微小な物質を分析する場合には、測定条件として真空が必要であったり、電子ビームやイオンビームの利用にともなって、試料が破壊されたり、損傷されたりする等の問題があった。

【0003】

溶液あるいは生体組織中等の超微量の試料を扱う場合には、高精度で高い空間分解能での分析ができる、光学領域の顕微鏡の使用が必須である。このような光学領域の顕微鏡として実際に利用されているのはレーザー蛍光顕微鏡に限られている。したがって、分析の対象もおのずとレーザー蛍光顕微鏡蛍光分子に限られている。

【0004】

また、現在、化学反応の高速性や微量での反応、オンサイト分析等の観点から、化学反応を微小空間で行うための集積化技術が注目されており、精力的な研究が世界的に進められている。

【0005】

10

20

30

40

50

上記の集積化技術の一つとして、いわゆるマイクロ化学システムがある。このマイクロ化学システムは、小さなガラス基板等に形成した微細な流路の中で液中試料の混合、反応、分離、抽出、検出等を行うものである。このマイクロ化学システムで行われる反応の例としては、ジアゾ化反応、ニトロ化反応、抗原抗体反応などがある。また、抽出や分離の例としては、溶媒抽出、電気泳動分離、カラム分離などがある。マイクロ化学システムは、分離だけを目的としたような単一の機能のみで用いられても良く、また複合的に用いられても良い。

【0006】

上記の機能のうち、分離のみを目的としたものとしては、極微量のタンパクや核酸等进行分析する電気泳動装置が提案されている（例えば、特許文献1参照）。これは互いに接合された2枚のガラス基板からなる流路付き板状部材を備えている。この部材は板状であるので、横断面が円形または角形のガラスキャピラリーチューブに比べて破損しにくく、取り扱いが容易である。

10

【0007】

マイクロ化学システム中において、真空場を必要とすることがなく、非接触、非損傷での分析が可能であって、しかも分析対象が蛍光分子に限られることなく、高精度で、高い空間分解能での分析が可能な分析方法として、光熱変換現象による熱レンズ効果を利用した光熱変換分光分析方法が注目されている。

【0008】

この光熱変換分光分析法は、試料に光を集光照射したときに試料中の溶質の光吸収に起因してその後放出される熱エネルギーにより溶媒が局所的に温度上昇して屈折率が変化し、その結果熱レンズが形成されるという光熱変換効果を利用するものである。

20

【0009】

図2は、熱レンズの原理の説明図である。図2において、対物レンズを介して励起光を極微小試料に集光照射すると光熱変換効果が誘起される。多くの物質では温度上昇に伴い屈折率が小さくなるので、励起光が集光照射された試料は、集光中心ほど温度上昇により屈折率が低下し、熱拡散により周囲に近づくほど温度上昇しないので屈折率の低下が少ない。光学的にはこの屈折率分布はちょうど凹レンズと同じ効果を持つので、この効果を熱レンズ効果と呼ぶ。この熱レンズ効果の大きさ、即ち凹レンズの度数は試料の光吸収度に比例する。また、屈折率が温度に比例して大きくなる場合は、凸レンズが形成される。

30

【0010】

このように、上記光熱変換分光分析法は、温度の変化、即ち屈折率の変化を観察するものであるので、極微小試料の濃度を検出するのに適している。

【0011】

上記光熱変換分光分析法を実行する光熱変換分光分析装置としては、例えば特許文献2記載のものが提案されている。このような光熱変換分光分析装置においては、試料は顕微鏡の対物レンズの下方に配置され、励起光用光源から出力された所定波長の励起光は、顕微鏡に入射し、この顕微鏡の対物レンズによって試料中の極微量領域に集光照射される。その集光照射位置を中心として熱レンズが形成される。

【0012】

一方、検出光用光源から出力され、波長が励起光と異なる検出光は、顕微鏡に入射し、顕微鏡から出射される検出光は、励起光により試料に形成された熱レンズに集光照射され、試料を透過して発散または集光する。この試料から発散又は集光して出射された光は信号光となり、その信号光は、集光レンズおよびフィルタまたはフィルタを経て検出器により検出される。検出された信号光の強度は、試料において形成された熱レンズに応じたものである。

40

【0013】

上記検出光に関しては、励起光と同じ波長でもよく、また励起光が検出光を兼ねることもできる。しかしながら、一般的には励起光と検出光の波長を異なるものとした場合の方が良い感度を得られる。

50

【特許文献 1】特開平 8-178897 号公報

【特許文献 2】特開平 10-232210 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

しかしながら、上記従来の光熱変換分光分析装置は、光源や、測定部や検出部（光電変換部）の光学系等が複雑にシステムアップされており、大型で可搬性に欠けていた。このため、この光熱変換分光分析装置を利用した分析や化学反応を行う際には、その場所や操作が限定されるという要因になっていた。

【0015】

多くの場合、熱レンズを用いた光熱変換分光分析方法を用いる場合には、励起光の焦点位置と検出光の焦点位置とが異なっていることが必要となる。図 3 は、励起光の光軸方向（Z 方向）に関する熱レンズの形成位置と検出光の焦点位置の説明図であり、（a）は対物レンズが色収差をもつ場合を示し、（b）は対物レンズが色収差を持たない場合を示す。

【0016】

対物レンズ 130 が色収差を持つ場合は、図 3（a）に示すように、熱レンズ 131 は、励起光の焦点位置 132 に形成されると共に、検出光の焦点位置 133 は ΔL だけ励起光の焦点位置 132 からずれるので、この検出光により熱レンズ 131 の屈折率の変化を検出光の焦点距離の変化として検出することができる。一方、対物レンズ 130 が色収差をもたない場合は、図 3（b）に示すように、検出光の焦点位置 133 は、励起光の焦点位置 132 に形成される熱レンズ 131 の位置とほぼ一致する。この結果、検出光には熱レンズ 131 による偏向が生じないので、熱レンズ 131 の屈折率の変化は検出できない。

【0017】

しかしながら、顕微鏡の対物レンズは、通常、色収差をもたないように製造されている。したがって、上記の理由により、検出光の焦点位置 133 は、励起光の焦点位置 132 に形成される熱レンズ 131 の位置とほぼ一致し（図 3（b））、熱レンズ 131 の屈折率の変化を検出することができない。このため、測定の度に、熱レンズ 131 が形成される試料の位置を、図 4（a）および図 4（b）に示すように、検出光の焦点位置 133 からずらしたり、図 5 に示すように、不図示のレンズを用いて検出光を若干発散または集光させて対物レンズに入射させることにより検出光の焦点位置 133 を熱レンズ 131 からずらしたりしなければならず、ユーザーの作業効率が悪いという問題がある。

【0018】

また、従来、光熱変換分光分析において、検出光を感度良く検出するための方法が知られていなかったため、測定感度の設計をすることができず、高性能なマイクロ化学システムを安定して製造することができないという問題があった。

【0019】

本発明の目的は、高感度な分析および検出ができる光熱変換分光分析法、及び該方法を実行する小型のマイクロ化学システムを提供することにより、さらには光熱変換分光分析法に適した流路深さを有した流路を使用することにより、より高感度な光熱変換分光分析法、及び該方法を用いたマイクロ化学システムを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0020】

上記目的を達成するために、請求項 1 に記載の発明は、マイクロ化学システムであって、試料を流すための流路と、波長の異なる 2 種の光を出射する光出射手段と、前記光出射手段からの出射光を集光して前記流路に向けて焦点を結ぶ集光レンズと、前記流路を透過した前記出射光の強度を検出する検出手段とを備えたマイクロ化学システムにおいて、前記流路の深さが、前記異なる 2 種の光が結ぶ焦点位置の距離の差の 2 倍以上であることを特徴とする。

10

20

30

40

50

【0021】

請求項2に記載の発明は、請求項1に記載のマイクロ化学システムであって、前記集光レンズは、色収差を有していることを特徴とする。

【0022】

請求項3に記載の発明は、請求項1または2に記載のマイクロ化学システムであって、前記集光レンズはロッドレンズであることを特徴とする。

【0023】

請求項4に記載の発明は、請求項1乃至3のいずれか1項に記載のマイクロ化学システムであって、前記出射手段と前記集光レンズとが光ファイバーで結合されていることを特徴とする。

10

【0024】

請求項5に記載の発明は、請求項4に記載のマイクロ化学システムであって、前記光ファイバーは、シングルモードファイバーであることを特徴とする。

【0025】

請求項6に記載の発明は、光熱変換分光分析方法であって、分析対象となる流体に、励起光を集光照射することによって、前記流体中に熱レンズを生成し、前記熱レンズに検出光を集光照射し、前記熱レンズを透過した前記検出光の強度を測定する光熱変換分光分析方法において、前記励起光と前記検出光の焦点位置の距離の差が、前記流体の深さの半分以下となるようにすることを特徴とする。

【発明の効果】

20

【0026】

本発明によれば、検出対象試料を流す流路の深さが、励起光および検出光の焦点位置差の2倍以上であるので、十分な信号強度が得られ、高感度な検出が可能となるため、従来は測定することができなかった微小な反応についても測定することができる。

【0027】

本発明によれば、集光レンズは色収差を有しているので、励起光及び検出光の焦点位置を調整するための光学系を省略でき、装置を小型化することができる。

【0028】

本発明によれば、集光レンズはロッドレンズであるので、集光レンズを小さくすることができ、流路に集光レンズを近づけることができるため、マイクロ化学システムをより小型化することができる。

30

【0029】

本発明によれば、励起光および検出光を集光レンズまで導くための導光路として、光ファイバーを用いているので、測定の度に励起光及び検出光の光路を調整する必要がなく、ユーザーの作業効率が向上する。また、光路を調整するための治具が不要なのでマイクロ化学システムを小型化できる。1本の光ファイバーで励起光および検出光を伝搬する場合には、励起光と検出光は常に同軸となるため、光軸を調整する治具が不要であり、マイクロ化学システムをさらに小型化できる。

【0030】

本発明によれば、シングルモードの光ファイバーを用いるため、励起光によって生成される熱レンズが収差の少ない小さなレンズとなり、より正確な検出ができる。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0031】

以下、図面を参照しながら本発明の具体的な実施形態について説明する。

【0032】

本発明者らは鋭意研究の結果、マイクロ化学システムに適用する光熱変換分光分析方法において、検出光の強度は、励起光と検出光の焦点位置の差と流路の深さの関係に依存することを見出した。

【0033】

図1は、本発明の実施の形態に係るマイクロ化学システムの概略構成を示す概略図であ

50

る。図 1 において、マイクロ化学システムはレンズを内蔵する光ファイバー 10（以下レンズ付き光ファイバー 10）を備えている。光ファイバー 10 は後端側（図面上では上側）に、励起光及び検出光をシングルモードで伝搬する光ファイバー 101 が挿入されており、この光ファイバー 101 の挿入端は屈折率分布型ロッドレンズ 102 の一端に接続されている。光ファイバー 101 の外径を屈折率分布型ロッドレンズ 102 の外径と同一にするために、屈折率分布型ロッドレンズ 102 の外径と同一の外径を有するフェルール 103 が光ファイバー 101 を囲むように設けられている。光ファイバー 101 はフェルール 103 によって固定されており、屈折率分布型ロッドレンズ 102 とフェルール 103 とはチューブ 104 内に固定されている。ここで、光ファイバー 101 と屈折率分布型ロッドレンズ 102 とは密着していてもよいし、隙間があっても良い。このレンズ付き光ファイバー 10 は、後述する流路付き板状部材 20 の表面で流路 204 に面する位置に固定されている。レンズ付き光ファイバー 10 は、接着剤を用いて流路付き板状部材 20 に直接に接着してもよいし、治具を用いて固定してもよい。また、不図示の治具を用いて流路付き板状部材 20 と離して固定してもよい。レンズ付き光ファイバー 10 を流路付き板状部材 20 に接着する接着剤には、紫外線硬化型、熱硬化型、2 液硬化型等のアクリル系接着剤、エポキシ系接着剤等の有機系接着剤、および無機系接着剤等を用いることができる。なお、レンズ 102 は所定の色収差を有しているものであれば、屈折率分布型ロッドレンズに限られるものではない。

【0034】

屈折率分布型ロッドレンズ 102 は、円柱状の透明なレンズであり、長手方向に延びる中心線位置から半径方向に屈折率が連続的に変化するものである。このようなロッドレンズは、中心線位置の屈折率を n_0 、2 乗分布定数を g として、中心線位置から半径方向に r の距離にある位置の屈折率 $n(r)$ が、近似的に r に関する 2 次方程式

$$n(r) = n_0 \{ 1 - (g^2 / 2) \cdot r^2 \}$$

で表される集束性光伝送体として知られている。

【0035】

屈折率分布型ロッドレンズ 102 は、その全長 z_0 を $0 < z_0 < \pi / 2 g$ の範囲内で選択する場合、両端面が平坦でありながら通常の凸レンズと同じ結像性を有し、平行入射光線によって出射端より

$$s_0 = \cot(g z_0) / n_0 g$$

の位置に焦点が作られる。

【0036】

屈折率分布型ロッドレンズ 102 の底面が平面であるので、光ファイバー端面に容易に取り付けられるとともに、屈折率分布型ロッドレンズ 102 の光軸と光ファイバー 101 の光軸とを容易に一致させることができる。また、屈折率分布型ロッドレンズ 102 は円柱状であるのでレンズ付き光ファイバー 10 も容易に円柱状にできる。

【0037】

光ファイバー 101 をシングルモードとしたのは、光熱変換分光分析法を利用して試料中の微量な溶質を検出する場合、励起光をできるだけ小さく絞り、光熱変換に利用されるエネルギーを高くするとともに、励起光によって生成する熱レンズが収差の少ないレンズになることが望ましいからである。

【0038】

この点、シングルモードの光ファイバー 101 から出射される光は常にガウス分布になるので、励起光の焦点が小さくなる。また、励起光によって生成された熱レンズが小さい場合、この熱レンズを透過する検出光の光量をできる限り多くするためには、検出光もできる限り小さく絞ることが望ましい。この点からも、光ファイバーは励起光及び検出光をシングルモードで伝搬するものであることが好ましい。

【0039】

なお、光ファイバー 101 は励起光及び検出光を透過させるものであればどのようなものでも使用はできるが、マルチモード光ファイバーを使用した場合は、出射光がガウス分

10

20

30

40

50

布にならない上に、光ファイバー１０１の曲がり具合等の種々の条件によって出射パターンが変化するので、必ずしも安定な出射光が得られない。このため、微量な溶質の測定が困難になるとともに測定値が安定しない場合がある。したがって、上述のように光ファイバー１０１はシングルモードのものが好ましい。

【００４０】

光ファイバーの先端を球形等に加工してレンズとすれば、光ファイバーの先端にレンズを取り付けなくても励起光および検出光を絞ることが可能であるが、この場合、色収差がほとんどないために励起光と検出光の焦点位置がほぼ同じとなる。このため、熱レンズの信号がほとんど検出されないという問題がある。また、光ファイバー先端の加工によるレンズは収差が大きいので、励起光および検出光の焦点が大きいという問題もある。したがって、本実施の形態では光ファイバー１０１の先端にレンズ１０２が取り付けられている。

10

【００４１】

光ファイバー１０１の他方端には励起光用光源１０５、検出光用光源１０６、励起光用光源を変調するために用いる変調器１０７、光ファイバー内に入射された励起光と検出光とを合わせる２波長合波器１０８が配設されている。なお、２波長合波器１０８を用いる代わりに、ダイクロイックミラーを用いて励起光と検出光を合波してから光ファイバー１０１へ入射させてもよい。

【００４２】

検出するための試料を流す流路付き板状部材２０は、例えば３層に重ねて接着されたガラス基板２０１、２０２、２０３から成る。ガラス基板２０２には混合、攪拌、合成、分離、抽出、検出等の際に試料を流す上記の流路２０４が形成されている。

20

【００４３】

この流路付き板状部材２０の材料は耐久性、耐薬品性の面からガラスが望ましく、さらに、細胞等の生体試料、例えばＤＮＡ解析用としての用途を考慮すると、耐酸性、耐アルカリ性の高いガラス、具体的には、硼珪酸ガラス、ソーダライムガラス、アルミノ硼珪酸ガラス、石英ガラス等が好ましい。しかし、用途を限定することによってプラスチック等の有機物を用いることができる。

【００４４】

ガラス基板２０１、２０２、２０３同士を接着させる接着剤には、例えば、紫外線硬化型、熱硬化型、２液硬化型のアクリル系、エポキシ系の有機接着剤、及び無機接着剤等がある。また、熱融着によってガラス基板２０１～２０３同士を融着させてもよい。

30

【００４５】

流路２０４に面する位置において、レンズ付き光ファイバー１０に対向する位置には、検出光を検出するための光電変換器４０１、励起光と検出光とを分離して検出光のみを選択的に透過させる波長フィルター４０２が配設されている。検出光の一部のみを選択的に透過させるためのピンホールが形成された部材をそのピンホールが検出光の光路上でかつ光電変換器４０１よりも上流の位置に位置するように配置しても良い。

【００４６】

光電変換器４０１より得られた信号は、励起光を変調するために用いられた変調器１０７と同期させるためにロックインアンプ４０４に送られ、その後コンピューター４０５で解析される。

40

【００４７】

屈折率分布型ロッドレンズ１０２の励起光の焦点位置は、流路付き板状部材２０の流路２０４の中に位置する事が望ましい。屈折率分布型ロッドレンズ１０２は流路付き板状部材２０に接触している必要はないが、接触する場合は流路付き板状部材２０の上部ガラス板２０１の厚みで屈折率分布型ロッドレンズ１０２の焦点距離を調整できる。上部ガラス板２０１の厚みが足りない場合は、屈折率分布型ロッドレンズ１０２と上部ガラス板２０１との間に焦点距離を調整するためのスペーサーを入れてもよい。

【００４８】

50

屈折率分布型ロッドレンズ102は、励起光の焦点位置に対して検出光の焦点位置がわずかに ΔL だけずれるように設定される(図3(a))。

【0049】

I_c は、共焦点長(nm)として、 $I_c = \pi \cdot (d/2)^2 / \lambda_1$ で計算される。ここで、 d は $d = 1.22 \times \lambda_1 / NA$ で計算されるエアリーディスクであり、 λ_1 は、励起光の波長(nm)であり、 NA は、屈折率分布型ロッドレンズ102の開口数である。光ファイバーを用いる場合は、光ファイバーの出射光の開口数が小さいため、大きな開口数を有するロッドレンズを用いた場合の共焦点長の計算には光ファイバーの開口数を考慮する必要がある。

【0050】

共焦点長より薄い試料を測定する場合は、上記 ΔL 値は、 $\Delta L = \sqrt{3} \cdot I_c$ であることが最も好ましい。この ΔL の値は、検出光の焦点位置と励起光の焦点位置の差を表しているので、検出光の焦点距離が励起光の焦点距離よりも長い場合であっても、短い場合であっても同じ結果となる。

【0051】

マイクロ化学システムに用いられる板状部材に作製する流路は、 $50 \sim 100 \mu m$ の深さとする。これは下記の理由によるためである。マイクロ化学システムでは、板状部材内に作製された微細な流路内で液中試料の混合、反応、分離、抽出、検出等を行うため、ビーカー等を用いた一般的な化学操作に比較して、用いる試料の量を少なくすることができる、反応を高速に行うことができる、装置を小型化することができる等の利点を有している。この中で、反応の高速化に関してより詳しく説明する。マイクロ化学システムを用いることで特にメリットが得られる反応としては、界面を介して反応が進行する液液界面反応がある。この反応においては、各溶液中に含まれる反応物が界面で接触することによって反応が進行する。反応は界面のみで起こるため、反応速度は各溶液中の反応物がいかに界面に到達するかで決定される。よって、比界面積(溶液の体積に対する界面の割合)が重要となる。マイクロ化学システムでは流路にそって界面を形成できるため、ビーカー等での反応に対して非常に大きな比界面積を取ることが可能となり、そのため、反応の高速化が可能となる。この比界面積をより大きくして反応を高速化するためには、界面からの溶液の深さ、すなわち溝の幅を小さくすることが重要となる。しかしながら、現在マイクロ化学システムで用いられている溝の作製方法のウェットエッチング等の方法では、作製できる溝のアスペクト比(溝幅と深さの比)が限られているため、溝幅のみを単独で制御することはできず、溝幅を狭くするためには溝の深さも浅くする必要がある。

【0052】

以上のことから、反応を高速化するためには溝の深さは浅いほどよいことがわかる。ただ、あまり溝を小さくしすぎると、溝中で液体の特性が維持されなくなる、溝内へ液体を挿入することが難しくなる等の問題がでてくるため、 $50 \sim 100 \mu m$ 程度の深さを有する溝を用いることが多い。上記のような流路に検出対象物質を含む溶液が流れている状態で光熱変換分光分析法を実施することは、試料の厚みが励起光の共焦点長に対して非常に厚いことを意味する。例えば、波長 $658 nm$ の励起光を NA (開口数) 0.25 の対物レンズで集光した場合の共焦点長は、 $12.3 \mu m$ であるが、流路の厚みはその4倍以上あることとなる。このように検出対象物質が共焦点長に対して厚い場合は、前記の薄膜の場合と比較すると、熱レンズを形成する薄膜が厚み方向に数多く積層した状態と同じになり、最終的にはその積分値になるので、薄膜の場合よりも励起光と検出光との焦点位置のずれの最適値は大きなものとなる。

【0053】

このような焦点位置のずれを大きくした集光レンズを用いた場合は、励起光の焦点位置と検出光の焦点位置とが離れるため、励起光によって形成される熱レンズの深さ方向成分の影響をより受けることとなる。このため、光熱変換分光分析測定においては、用いる溝の深さは深いほど得られる信号強度が強くなるので望ましい。しかしながら、上述した反応速度と溝の深さとの関係では溝深さは浅いほど望ましいため、両者を考慮すると、溝の

10

20

30

40

50

深さは色収差すなわち励起光と検出光の焦点位置差は2倍以上であることが望ましく、より望ましくは3倍以上である。

【0054】

上記は、ウェットエッチングによって等方的な溝を作製する場合について述べたが、ウェットエッチング以外の方法（例えば機械的な研削、マスキングを利用した異方的なエッチング、ドライエッチングなど）で異方的な溝を作製するときは、チップ表面と垂直な面における溝の断面積が $10 \sim 1.0 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ の範囲となるように、溝の幅と深さを設計すればよい。前記面積の範囲内であれば、マイクロ化学チップとしての機能を発揮する反応速度や特性を得ることができる。

【0055】

光熱変換分光分析測定において、検出光の強度が、励起光および検出光の焦点位置の差と流路の深さに依存することを本発明者らは見出したが、光熱変換分光分析測定をマイクロ化学システムに適用するためには、上述したように、反応速度などとの関係で適切な溝深さが決定される。即ち、励起光および検出光の波長、溝深さ、必要とする検出強度の3つを考量してマイクロ化学システムの設計を行う必要がある。マイクロ化学システムに使用される波長は $400 \sim 1000 \text{ nm}$ が好ましく、反応速度の観点から溝深さは $50 \sim 100 \mu\text{m}$ が好ましい。これらの条件から、十分な検出強度が得られ、かつ、十分な反応速度を得るためには、溝の深さは、励起光および検出光の焦点位置の差の約2～4倍とすることが最も好ましい。

【0056】

屈折率分布型のロッドレンズを使用してどの程度の色収差が得られるかを例示する。用いる屈折率分布型ロッドレンズには、例えば日本板硝子株式会社のSELFOCTMレンズカタログに記載されているSLWを用いることができる。

【0057】

流路付き板状部材の材質がパイレックス（登録商標）ガラス、流路上の厚み（上部ガラス201の厚み）が 0.9 mm 、流路の深さ 0.1 mm 。屈折率分布型ロッドレンズSLWの直径 1 mm 、ロッド長 2.3 mm 、励起光波長 658 nm 、検出光波長 785 nm 、励起光の焦点位置が流路の真ん中とした場合に得られる焦点位置差（ ΔL ）は $37 \mu\text{m}$ である。

【0058】

このレンズを集光レンズとして用い、板状部材に作製された流路深さと熱レンズ信号強度にどのような関係があるかを測定した結果を図6に示す。これは下記条件において測定した場合のものである。

【0059】

測定試料としては、ニッケルフタロシアニンスルホン酸四ナトリウム塩を 10^{-5} モル／リットルの濃度で溶解した水溶液を、各深さを有する板状部材に作製された流路に入れ、液を止めた状態で測定した。励起光の波長は 658 nm 、検出光の波長は 785 nm 、励起光の変調速度は 1 kHz であり、励起光の焦点位置を溝の中央に固定して測定した。

【0060】

図6において、信号強度が最大になるのは板状部材に作製された流路の深さが $160 \mu\text{m}$ 以上であり、これは用いた集光レンズの色収差の約4.3倍に相当する。信号強度が最大の9割となるのは板状部材に作製された流路が $120 \mu\text{m}$ （集光レンズの色収差の3.2倍）であり、信号強度が最大の6割となるのは $75 \mu\text{m}$ （集光レンズの色収差の2倍）であった。

【0061】

上述の屈折率分布型ロッドレンズSLWは、他の屈折率分布型ロッドレンズと組み合わせることによって色収差を調整することができる。SLWレンズと日本板硝子株式会社のSELFOCTMレンズカタログに記載されているSLA12相当レンズと組み合わせることによって色収差 $20 \mu\text{m}$ の集光レンズを作製し、板状部材に作製された流路深さと熱レンズ信号強度にどのような関係があるかを測定した結果を図7に示す。

10

20

30

40

50

【0062】

図7において、信号強度が最大になるのは板状部材に作製された流路の深さが100 μ m以上であり、これは用いた集光レンズの色収差の約5倍に相当する。信号強度が最大の9割となるのは板状部材に作製された流路が70 μ m（集光レンズの色収差の3.5倍）であり、信号強度が最大の5割となるのは40 μ m（集光レンズの色収差の2倍）であった。

【0063】

以上のように、マイクロ化学システムに用いる流路の深さは反応の高速化を考えると浅い程よいが、あまり浅くしすぎてしまうと得られる熱レンズ信号の強度が小さくなり、検出感度が低下してしまうという問題がある。そのため、溝の深さを集光レンズの色収差すなわち励起光と検出光の焦点位置差の2倍以上にすることにより、熱レンズ信号の強度を最高値の5割以上とすることができ、反応速度を大きく保ったまま、測定するための十分な検出強度を得ることが可能となる。また、反応速度が大きい反応を測定するときや、反応速度が小さくても良い測定の場合、マイクロ化学システムに用いる流路の深さを集光レンズの励起光と検出光の焦点位置差の3倍以上にしてもよい。若干反応速度はやや小さくなるが、熱レンズ信号の強度を最高値の7割以上とすることができ、検出感度をより向上させることが可能となる。

【0064】

本発明の実施の形態によれば、集光レンズとして用いた屈折率分布型ロッドレンズの色収差に適した深さを有した流路を備える板状部材を用いているため、高感度の測定ができる。また、励起光または検出光の焦点位置を調整するための光学系を別途設置する必要がなくなるために装置を小型化することができる。

【産業上の利用可能性】

【0065】

本発明は、微細な流路中を流れる微量試料の反応を検出することができるマイクロ化学システムおよび該マイクロ化学システムに適用できる光熱変換分光分析方法に利用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0066】

【図1】本発明の第1の実施の形態に係るマイクロ化学システムの概略構成を示す概略図である。

【図2】熱レンズの原理の説明図である。

【図3】励起光の光軸（Z軸方向）に関する熱レンズの形成位置と検出光の焦点位置の説明図であり、（a）は、対物レンズが色収差をもつ場合を示し、（b）は、対物レンズが色収差をもたない場合を示す。

【図4】励起光の光軸（Z軸方向）に関する熱レンズの形成位置と検出光の焦点位置の説明図であり、（a）は、熱レンズが検出光の焦点位置よりも対物レンズ側に形成する場合、（b）は、熱レンズが検出光の焦点位置よりも遠方側に形成する場合を示す。

【図5】従来の光熱変換分析装置における熱レンズの屈折率の変化を検出する方法の説明図であり、検出光を光路の途中に凹レンズを入れて発散光とし、励起光の焦点距離位置よりも遠方に焦点位置がくるようにした場合を示す。

【図6】色収差37 μ mの集光レンズを用いた場合における、板状部材に作製された流路の深さと熱レンズ信号強度の関係を示す図である。

【図7】色収差20 μ mの集光レンズを用いた場合における、板状部材に作製された流路の深さと熱レンズ信号強度の関係を示す図である。

【符号の説明】

【0067】

- 10 先端にレンズを取り付けた光ファイバー
- 20 流路付き板状部材
- 101 光ファイバー

10

20

30

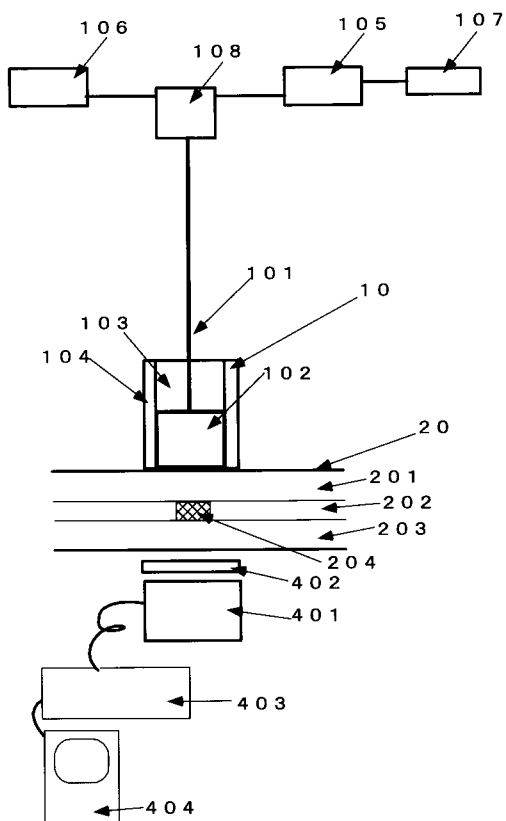
40

50

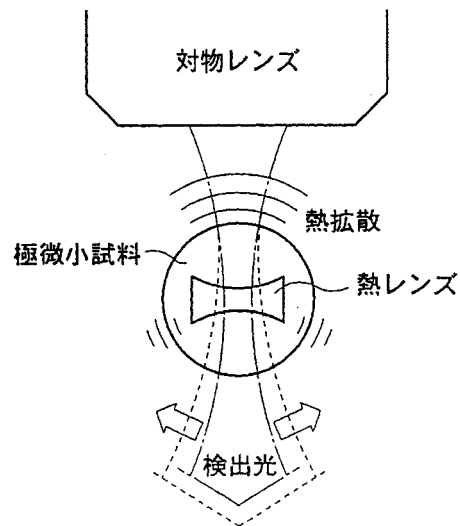
- 102 屈折率分布型ロッドレンズ
- 103 フェルール
- 104 チューブ
- 105 励起光用光源
- 106 検出光用光源
- 107 励起光変調器
- 108 2波長合波器
- 130 対物レンズ
- 131 熱レンズ
- 132 励起光の焦点位置
- 133 検出光の焦点位置
- 134 熱レンズによってずれた検出光の焦点位置
- 201、202、203 ガラス基板
- 204 混合、攪拌、合成、分離、抽出、検出用溝
- 401 光電変換器
- 402 波長フィルター
- 403 ロックインアンプ
- 404 コンピューター

10

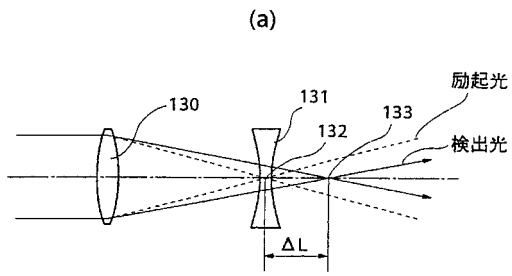
【図1】



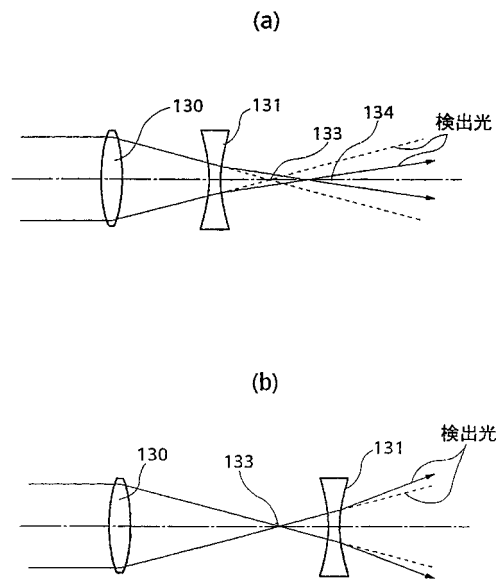
【図2】



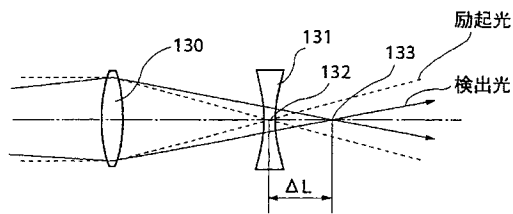
【図 3】



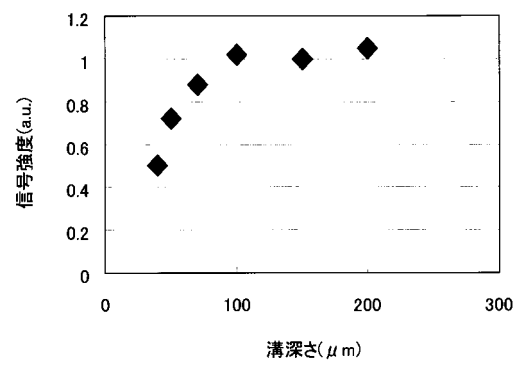
【図 4】



【図 5】



【図 7】



【図 6】

